Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut zu Freiburg im Breisgau
Direktor: Professor Dr. Kapfhammer

Acetylcholin und Cholin im Hühnerei während der Bebrütung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät der Albert-Ludwigs-Universität
zu Freiburg im Breisgau

vorgelegt von
Erich Wachs
aus Dresden

1932

Druck W. Wiemken, Freiburg im Breisgau, Brombergstraße 15

Referent:
Professor Dr. Kapfhammer

Dekan:
Professor Dr. Rehn

Gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät zu Freiburg im Breisgau

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Acetylcholin und Cholin im Hühnerei während der Bebrütung

Durch die Arbeiten von Fukutomi, Burns, Sharpe, Nakamura und anderen ist bekannt, daß im Hühnerei freies Cholin vorkommt, und daß während der Bebrütung dieses freie Cholin zunimmt, das Lecithincholin aber abnimmt. Da nun die Untersuchungen von Kapfhammer und Bischoff wahrscheinlich gemacht haben, daß das von vielen Forschern in den Geweben nachgewiesene freie Cholin als Acetylcholin vorgelegen hat, habe ich Hühnereier während der Bebrütung auf Acetylcholin und auf gesamtes freies Cholin mit dem biologischen Verfahren am Kaninchendarm untersucht; das Lecithincholin habe ich nicht bestimmt.

Zunächst fand ich, daß auch das frische, unbebrütete, eben gelegte Ei tatsächlich Acetylcholin enthält, allerdings nur in geringer Menge; außerdem ist im frischen Ei auch noch freies Cholin enthalten. Während der Bebrütung nahmen Acetylcholin und freies Cholin nach und nach zu, und zwar Acetylcholin von 0,0017 mg für das frische Ei bis auf 12 mg für das Ei am 18. Bebrütungstage, während ich an Gesamtcholin, also Acetylcholin + freies Cholin, im frischen, noch unbebrüteten Ei 0,12 mg, im Ei am 18. Bebrütungstage 14 mg feststellte. Der Befund, daß das Hühnerei Acetylcholin enthält und daß die Acetylcholinmengen im Laufe der Bebrütung zunehmen, ist neu. Meine

Untersuchungen bestätigen außerdem die Untersuchungen Nakamuras, der Hühnereier während ihrer Entwicklung auf organische Basen untersuchte und eine Erhöhung des gesamten freien Cholins fand, das er in lecithinfreien, alkoholischen Extrakten als $PtCl_4$-Doppelsalz über die $KHgJ_3$-Verbindung chemisch bestimmte. Das gesamte freie Cholin nahm von 0,64 mg im frischen Ei bis 2,27 mg im Ei am 19. Bebrütungstage zu.

Nach Nakamura soll das freie Cholin auf Kosten des Lecithincholins zunehmen. Wenn diese Annahme richtig ist, so müßte nach unseren Untersuchungen das Acetylcholin aus dem Lecithincholin entstehen können, sei es nun, daß das Lecithin die Muttersubstanz des schon vorgebildeten Acetylcholins abgibt, sei es, daß erst durch Zerfall von Lecithin Cholin frei wird, und dann durch Veresterung mit Essigsäure das Acetylcholin entstünde. Die erstere Entstehungsmöglichkeit wäre sehr interessant, könnte man doch durch die Annahme, daß das Lecithin als Muttersubstanz des Acetylcholins in Frage kommt, leicht erklären, daß eben dieses Acetylcholin, welches Kapfhammer und Bischoff im Blut und in den verschiedensten Organen chemisch nachgewiesen haben, in Form dieser Acetylcholinmuttersubstanz vorhanden ist, die aber selbst biologisch unwirksam ist und erst je nach dem physiologischen Bedarf im Organismus frei gemacht wird, um dann biologisch wirksam zu sein.

Versuchsteil

Die näheren Untersuchungsergebnisse habe ich in der nachfolgenden Übersicht zusammengestellt. Als Untersuchungsmaterial verwendete ich Eier von der Hühnerfarm Sölden. Nach Möglichkeit wurden je zwei Eier mit demselben Volumen Wasser angerührt, mit der zehnfachen Menge 96 %igen Alkohols versetzt und zentrifugiert. Das im Vakuum bei 40° Wassertemperatur bis auf das dem Eigewicht entsprechende Volumen eingeengte Filtrat wird mit dem gleichen Volumen 20 %iger wässeriger Trichloressigsäure versetzt und zwei Stunden im Eisschrank stehen gelassen. Danach wird zur Entfernung der Trichloressigsäure das Filtrat solange mit Äther ausgeschüttelt, bis das Filtrat nicht mehr kongosauer ist. Die klare Mutterlauge wird im Vakuum bei 40° Wassertemperatur bis auf das dem Eigewicht entsprechende Volumen eingeengt und biologisch ausgewertet.

Zur Bestimmung des gesamten freien Cholins wird 1 ccm dieser Lösung auf dem Wasserbade zur Trockne gebracht, 1 ccm Acetylchlorid zugegeben und mit Wasser auf das Volumen des Eigewichts aufgefüllt.

Als biologisches Test diente der überlebende Kaninchendarm, und zwar wurde nach der Vorschrift Magnus's in der Anordnung Trendelenburgs ein Stück Dünndarm in einem Bad von 10 ccm Ringerlösung nach Dale*) bei 38° C benützt. Mit einer Acetylcholinchlorid-Standardlösung wurde verglichen, und daraus wurden die Acetylcholinwerte berechnet.

---

*) NaCl 8g KCl 0,2g, $CaCl_2$ 0,2g, $MgCl_2$ 0,01g, Traubenzucker 1g NaH_2PO_4 0,05g $NaHCO_3$ 1g ad 1000 ccm H_2O.

Bebrütungs-dauer — Tage	Zahl der verwendeten Eier	Gewicht des Eies	Gewicht des Dotters	Acetylcholin pro Ei	freies Cholin acetyliert!
0	2	64 g	20 g	0,001 mg	0,12 mg
		71 g	20 g	0,0017 „	0,12 „
2	2	56 g	18 g	0,013 „	0,11 „
		60 g	20 g	0,018 „	0,1 „
4	2	57 g	20,5 g	0,037 „	0,29 „
		52 g	45,5 g	0,039 „	0,35 „
6	2	61 g	54 g	0,034 „	0,3 „
		56 g	49 g	0,068 „	0,26 „
8	2	56 g	49,5 g[1]	0,24 „	0,57 „
		57 g	50,5 g[1]	0,8 „	0,825 „
10	2	56 g	50 g[1]	1,11 „	1,33 „
		50 g	44 g[1]	0,44 „	0,66 „
12	2	57 g	51 g[1]	0,009 „	2,9 „
		56 g	50 g[1]	0,010 „	2,88 „
14	1	56,5 g	49,5 g[1]	0,004 „	5,2 „
16	1	62 g	62 g[1]	0,005 „	6,52 „
18	2	55 g	49 g[1]	10,00 „	9,4 „
		51 g	45,5 g[1]	12,00[2] „	14,0 „

[1]) Gewicht von Eiweiß und Dotter, da eine Trennung beider nur schwer möglich war.

[2]) Die gleiche Menge konnte ich über die Reinecke-Verbindung als Goldsalz nachweisen, ich erhielt 31,8 mg Goldsalz, das nach dem Umkristallisieren aus Wasser den geforderten Smp. 168° zeigt. Daraus berechnen sich 11,9 mg Acetylcholin, was mit dem biologischen Befund gut übereinstimmt.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Kapfhammer bin ich für die mir freundlichst überlassene Arbeit, für die liebenswürdigen und so bereitwillig gewährten Anregungen und Unterstützung zu größtem Dank verpflichtet.

Lebenslauf

Am 16. Oktober 1907 wurde ich zu Dresden geboren. Dort besuchte ich zunächst die 11. Bürgerschule, dann neun Jahre lang das humanistische Gymnasium zum heiligen Kreuz und bestand 1927 die Reifeprüfung.

Mein Medizinstudium begann im Sommersemester 1927 an der Universität zu Leipzig. Nach Ablegung der medizinischen Vorprüfung am Ende des Sommersemesters 1929 in Leipzig setzte ich mein Studium in Freiburg i. Br. fort, wo ich meine klinische Ausbildungszeit bis zum Abschluß des Studiums verbrachte.

Schrifttum

Bischoff, Grab und **Kapfhammer**:	Hoppe-Seyler's Zeitschrift 199, 135 (1931), 200, 153 (1931), 207, 57 (1932).
Burns:	Biochemic. Journ. 10, 263. (1916).
Fukutomi, J.:	Journ. of biophysics Bd. 2, Nr. 2, 13, (1927).
Kapfhammer u. **Bischoff**:	Hoppe-Seyler's Zeitschrift. 191, 179 (1930).
Sharpe, J. S.:	Biochemic. Journ. 18, 151 (1924) Chem. Zentralbl. 1924, II, 2524.
Yasuo Nakamura:	Hoppe-Seylers Ztschr. 177, 34 (1928).